



**University of
Zurich**^{UZH}

**Zurich Open Repository and
Archive**

University of Zurich
University Library
Strickhofstrasse 39
CH-8057 Zurich
www.zora.uzh.ch

Year: 2012

Fermentation in vitro-vorverdauter Grünfutter im Caesitec

Fechner, G ; Wichert, Brigitta ; Zeyner, A ; Suter, D ; Liesegang, Annette

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich

ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-62625>

Book Section

Published Version

Originally published at:

Fechner, G; Wichert, Brigitta; Zeyner, A; Suter, D; Liesegang, Annette (2012). Fermentation in vitro-vorverdauter Grünfutter im Caesitec. In: Kreuzer, Michael; Lanzini, T; Liesegang, Annette; Bruckmaier, R; Hess, H D. Feed for Health. Zürich: ETH Zürich Institut für Agrarwissenschaften, 206-211.

Feed for Health

Tagungsbericht

3. Mai 2012

Herausgeber:

M. Kreuzer, T. Lanzini, A. Liesegang, R. Bruckmaier, H.D. Hess

ETH-Schriftenreihe zur Tierernährung

Feed for Health

M. Kreuzer, T. Lanzini, A. Liesegang, R. Bruckmaier, H.D. Hess (Hrsg.)

Band 35
ETH-Schriftenreihe zur Tierernährung

ISBN 978-3-906466-35-3

Adresse: ETH Zürich
Institut für Agrarwissenschaften
Tierernährung / LFW
Universitätstrasse 2
8092 Zürich

Mai 2012

Fermentation *in vitro*-vorverdauter Grünfütter im Caesitec

G. Fechner¹, B. Wichert¹, A. Zeyner², D. Suter³ und A. Liesegang¹

¹ Institut für Tierernährung der Universität Zürich, Schweiz

² Institut für Nutztierwissenschaften und Technologie, Ernährungsphysiologie und Tierernährung, Universität Rostock, Deutschland

³ Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau, Reckenholz, Schweiz

Kontakt: Gudrun Fechner, fechner@vetphys.uzh.ch

1. Zielsetzung und Problemstellung

Ziel der geplanten Studie ist es, durch die Entwicklung einer *in vitro*-Methodik zur Verdauung das Verständnis der Ursachen für die unterschiedliche Verträglichkeit von Leguminosen und Gräsern beim Pferd zu verbessern. Diese Methodik soll die Verdauung in Magen und Dünndarm simulieren, sodass die zugänglichen Nährstoffe (insbesondere Kohlehydrate) der Futtermittel vorverdaut werden. Bei der anschliessenden Fermentation im bereits etablierten System des CAESITEC („Caecum-simulation-technique“) können die unterschiedlichen Auswirkungen der Grünfütter auf die Caecumflora und das Milieu in Annäherung an die Physiologie überprüft werden.

2. Bedeutung des Projektes

Eine leistungsorientierte Rationszusammenstellung für Pferde oder falsch eingeschätzte Nährstoffgehalte im Weidegras führen nicht selten zu einer übermässigen Aufnahme von Speicherkohlehydraten (Stärke und Fruktane). Die Fermentationsprodukte, die bei der Verdauung dieser Kohlehydrate entstehen, können zu einer Caecumazidose führen, welche mit unterschiedlichen pathophysiologischen Bildern wie Koliken und Hufrehe einhergeht. Durch die *in vitro*-Methodik können Fermentationsvorgänge nachvollzogen werden ohne dass hierfür Versuchstiere genutzt werden müssen. Zudem liefert das vorgestellte Projekt wichtige Erkenntnisse zur Fermentationskinetik verschiedener Speicherkohlehydrate, welche in dieser Form nur durch einen *in vitro*-Versuch gewonnen werden können.

3. Entwicklung der Vorverdauung

3.1. Ziele der *in vitro*-Vorverdauung

Lösliche Nährstoffe, die physiologisch bereits praecaecal enzymatisch aufgeschlossen und resorbiert würden, sollten durch die Vorverdauung entfernt werden, bevor diese dem CAESITEC zugeführt werden. Die zu entwickelnde Methodik hat zwei Schwerpunkte:

1. enzymatischer Aufschluss der Nährstoffe in physiologischem Mass. Das Augenmerk liegt hierbei auf der Verdauung der durch körpereigene abbaubare Kohlehydrate und des Proteins.
2. Entfernung der Nährstoffe (Aminosäuren, Monosaccharide u.a. kleinmolekulare Bestandteile), die auch praecaecal resorbiert werden (Muus et al., 1982, Hertel et al., 1970).

3.2. Enzymatische Vorbehandlung

Zur Entwicklung der Methodik wurden zunächst Maisstärke und Haferflocken als 2 Beispiele für stärkehaltige Futtermittel herangezogen. Zur Überprüfung der Methodik wird der Kohlehydratgehalt vor und nach der Vorverdauung bestimmt. Dies wird mithilfe von HPLC (unter Verwendung einer Vorsäule (Anion CO3 Cartridge von BIORAD Catalog-Nr. 125-0506) und einer Trennsäule (HPX - 87 C von BIORAD Catalog-Nr. 125-095 am RID) bestimmt.

Zur Weiterentwicklung werden nun Gräser und Leguminosen verwendet, um eine an die Physiologie angelehnte Vorverdauung auch in Bezug auf andere Nährstoffe (TS, Rfa, RP, Ra, NfE) zu erreichen. Die enzymatische Vorverdauung verläuft in zwei Schritten:

Simulierung des Magenmilieus:

Der pH-Wert liegt in einem für das Pferd bei Grasfütterung typischen durchschnittlichen Bereich von 3.2 ± 0.4 (Argenzio et al., 1974). Das Gras wird nach dem Ernten eingefroren und in lyophilisiertem Zustand vorverdaut, da von deutlichen Unterschieden im Fermentationsverhalten in Bezug auf Fütterung von Heu oder Frischgras ausgegangen werden muss (Bailey et al., 2003). Zu etwa 40 g lyophilisiertem Gras werden 500 ml Wasser und 1.3 g Pepsin (Bauer et al., 2003) zugefügt und der pH mittels 1 M HCl eingestellt. Die Inkubation verläuft über eine Stunde bei 38 °C.

Simulierung des Dünndarmmilieus:

Zugabe von 600 ml Phosphatpuffer: KH_2PO_4 (4.6 g/l) und $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ (5.84 g/l) mit einem pH von 6.8, zusätzlich wird der pH mittels 1-molarer NaOH-Lösung auf 6.8 ± 0.4 eingestellt, welcher im Mittel dem natürlichen Milieu des Dünndarms beim Pferd entspricht (Argenzio et al., 1974).

Anschließend wird Pankreatin zugegeben. Eine Zugabe von Amyloglykosidase ersetzt zudem die Wirkung der Disaccharidasen des Bürstensaumepithels des Dünndarms, welche die durch Spaltung durch Amylase entstandenen Disaccharide weiter in die Einfachzucker zerlegt. Die Inkubation verläuft bei 38 °C über 2 Stunden. Anschließend wird die Flüssigkeit inklusive der löslichen Anteile abgetrennt und der zurückbleibende Chymus wird eingefroren und anschließend lyophilisiert.

3.3. Fermentation im Caesitec

Zur weiteren Verdauung der bisher unverdauten Kohlehydrate, unterschiedlichen Fasern, sowie anderer mikrobiell verdaulicher Nährstoffe soll die CAESITEC-Technik zur Anwendung kommen. Das System besteht aus 6 gleichzeitig betriebenen gläsernen Fermentationseinheiten in einem 39°C warmen Wasserbad. Die Bewegung des Innenbehälters simuliert die Motorik des Caecums. 3 Öffnungen im Fermenteroberteil ermöglichen die Probenentnahme, sowie den Überlauf für die Gase ohne Gefährdung der anaeroben Verhältnisse. Je ein Säckchen mit Kot und eines mit der jeweils vorverdauten Grünfuttersorte werden in den Innenbehälter des Fermenters eingesetzt. In den Fermentern bildet sich nach einer Einlaufzeit von 24 Stunden ein stabiles Milieu, das dann ein physiologisches Caecummilieu simuliert. Dill et al., (2007) und Müller et al., (2008) konnten in einem Vergleich von frisch abgesetztem Kot, und Caecuminhalt ein stabiles Milieu nach einer Einlaufzeit von 24h nachweisen, sowie gleiche Fermentationsmuster unabhängig von der Art des Inokulums. Täglich werden in der Folge die Futtersäckchen (während eines Durchgangs jeweils immer die gleiche vorverdaute Grünfuttersorte) ausgetauscht. Die verschiedenen Fermentationsprodukte werden kontinuierlich während der 8-tägigen Versuchsphase gemessen (SCFA: Azetat, Propionat, iso- und n-Butyrat, Valeriat; L- und D-Laktat, Ammoniak, pH, Redoxpotential). Zusätzlich wird die qualitative bakteriologische Zusammensetzung der entnommenen Proben bestimmt.

4. Vorläufige Ergebnisse

Die oben beschriebene Vorverdauung wurde mit Rohrschwengel durchgeführt, welcher im April 2008 geerntet und eingefroren und kurz vor der Vorverdauung lyophilisiert wurde.

Folgende Nährstoffgehalte des verwendeten Rohrschwengels in der lyophilisierten Ursprungssubstanz (% OS):

<u>Trockensubstanz</u>	<u>Rohfaser</u>	<u>Rohprotein</u>	<u>Rohasche</u>	<u>NfE (berechnet)</u>
92.91	23.82	13.16	10.52	45.41

Sowie folgende Gehalte an Kohlehydraten (in % OS):

<u>Fruktan</u>	<u>Saccharose</u>	<u>Glukose</u>	<u>Fructose</u>
3.59	0.44	3.04	3.53

Das nach der oben beschriebenen Methode vorverdaute Material verfügt über folgende Nährstoffgehalte (in % OS):

<u>Trockensubstanz</u>	<u>Rohfaser</u>	<u>Rohprotein</u>	<u>Rohasche</u>	<u>NfE (berechnet)</u>
94.36	27.4	10.36	09.41	47.19

Sowie folgende Gehalte an Kohlehydraten (in % OS):

<u>Fruktan</u>	<u>Saccharose</u>	<u>Glukose</u>	<u>Fructose</u>
4.2	1.38	1.35	3.53

Folgende Anteile sind nach der Vorverdauung im Vergleich zur Originalsubstanz noch vorhanden (in % OS im Vergleich zur Ursprungssubstanz):

<u>Trockensubstanz</u>	<u>Rohfaser</u>	<u>Rohprotein</u>	<u>Rohasche</u>	<u>NfE (berechnet)</u>
46.24	63.63	42.40	50.4	41.49

Sowie folgende Gehalte an Kohlehydraten (in % OS):

<u>Fruktan</u>	<u>Saccharose</u>	<u>Glukose</u>	<u>Fructose</u>
49.16	165.33	40.84	55.64

Vermutlich lässt sich der erhöhte Saccharose-Gehalt durch die Einwirkung der Pankreasenzyme auf die im Gras enthaltenen löslichen Kohlehydrate erklären.

Literaturverzeichnis:

- Argenzio, R.A., Southworth, M., Stevens, C.E. (1974): Sites of organic acid production and absorption in the equine gastrointestinal tract. *Am. J. Physiol.* **226**: 1043-1050
- Bauer, E., Williams, B.A., Voigt, C., Mosenthin, R., Verstegen, M.W.A. (2003): Impact of mammalian enzyme pretreatment on the fermentability of carbohydrate – rich feedstuffs. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **3**: 207- 214
- Bailey, S.R., Marr, C.M., Elliot, J. (2003): Identification and quantification of amines in the equine caecum. *Research in Veterinary Science* **74**: 113-118
- Dill, B., Engelmann, W., Markuske, K.D., Zeyner, A. (2007): Comparison of equine caecum content and faeces in a modified "Rumen simulation technique". *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **16**: 73
- Hertel, J., Altmann, H.-J., Drepper, K., (1970): Ernährungsphysiologische Untersuchungen beim Pferd II: Rohnährstoffuntersuchungen im Magen- Darm- Trakt von Schlachtpferden. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* **26**: (1-5) 169-174

Müller, A.-M., Gall, D., Bremer, S., Zeyner, A. (2008): Suitability of differently harvested and prepared equine faeces as inoculum in the semi-continuous fermentation technique Caesitec. *Proc 12th Congress European Soc. Vet. Comparative Nutr. (ESVCN)* S. 117

Muus, H., Meyer, H., Schmidt, M. (1982): Entleerung und Zusammensetzung des Ileumchymus beim Pferd. *Fortschr. Tierphysiol. Tierernähr.* 13: 13-23.